

Der Einfluß von Antiseren auf die Hemmung der Primärantwort durch Immunproteine

von

Hans Dieter Juppe

aus

Gablonz



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548408_0082

Aus der Abteilung für klinische Immunologie
des Universitätskrankenhauses Erlangen-Nürnberg
Vorstand: Professor Dr. med. F. Scheiffarth

Der Einfluß von Antiseren auf die Hemmung der Primärantwort durch Immunproteine

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt

von

Hans Dieter Juppe

aus

Gablonz

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen
Fakultät der Universität Erlangen-Nürnberg

Aus der Abteilung für klinische Immunologie
des Universitätsklinikums Erlangen-Nürnberg
Vortrags Professor Dr. med. F. Scheiffarth

Der Einfluss von Antikörpern auf die Hemmung der Phagozytose durch Immunoglobuline

Immunologie - Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg
Erlangen



Dekan : Prof. Dr. med. Dr. phil.nat. H. Pauly

Referent : Prof. Dr. med. F. Scheiffarth

Tag der mündlichen Prüfung : 6. 3. 1973

Inhaltsverzeichnis

I. Einleitung	1
II. Charakteristika	2
1. Das Kind der Gegenwart	3
2. Das Kind der Zukunft	4
III. Literatur	5
1. Die Literatur der Gegenwart	6
2. Die Literatur der Zukunft	7
IV. Zusammenfassung	8
V. Quellen	9
VI. Literaturverzeichnis	10
VII. Zusammenfassung	11
VIII. Quellen	12
IX. Literaturverzeichnis	13
X. Zusammenfassung	14
XI. Quellen	15
XII. Literaturverzeichnis	16
XIII. Zusammenfassung	17
XIV. Quellen	18
XV. Literaturverzeichnis	19
XVI. Zusammenfassung	20
XVII. Quellen	21
XVIII. Literaturverzeichnis	22
XIX. Zusammenfassung	23
XX. Quellen	24
XXI. Literaturverzeichnis	25
XXII. Zusammenfassung	26
XXIII. Quellen	27
XXIV. Literaturverzeichnis	28
XXV. Zusammenfassung	29
XXVI. Quellen	30
XXVII. Literaturverzeichnis	31
XXVIII. Zusammenfassung	32
XXIX. Quellen	33
XXX. Literaturverzeichnis	34
XXXI. Zusammenfassung	35
XXXII. Quellen	36
XXXIII. Literaturverzeichnis	37
XXXIV. Zusammenfassung	38
XXXV. Quellen	39
XXXVI. Literaturverzeichnis	40
XXXVII. Zusammenfassung	41
XXXVIII. Quellen	42
XXXIX. Literaturverzeichnis	43
XL. Zusammenfassung	44
XLI. Quellen	45
XLII. Literaturverzeichnis	46
XLIII. Zusammenfassung	47
XLIV. Quellen	48
XLV. Literaturverzeichnis	49
XLVI. Zusammenfassung	50
XLVII. Quellen	51
XLVIII. Literaturverzeichnis	52
XLIX. Zusammenfassung	53
L. Quellen	54
LI. Literaturverzeichnis	55
LII. Zusammenfassung	56
LIII. Quellen	57
LIV. Literaturverzeichnis	58
LV. Zusammenfassung	59
LVI. Quellen	60
LVII. Literaturverzeichnis	61
LVIII. Zusammenfassung	62
LIX. Quellen	63
LX. Literaturverzeichnis	64
LXI. Zusammenfassung	65
LXII. Quellen	66
LXIII. Literaturverzeichnis	67
LXIV. Zusammenfassung	68
LXV. Quellen	69
LXVI. Literaturverzeichnis	70
LXVII. Zusammenfassung	71
LXVIII. Quellen	72
LXIX. Literaturverzeichnis	73
LXX. Zusammenfassung	74
LXXI. Quellen	75
LXXII. Literaturverzeichnis	76
LXXIII. Zusammenfassung	77
LXXIV. Quellen	78
LXXV. Literaturverzeichnis	79
LXXVI. Zusammenfassung	80
LXXVII. Quellen	81
LXXVIII. Literaturverzeichnis	82
LXXIX. Zusammenfassung	83
LXXX. Quellen	84
LXXXI. Literaturverzeichnis	85
LXXXII. Zusammenfassung	86
LXXXIII. Quellen	87
LXXXIV. Literaturverzeichnis	88
LXXXV. Zusammenfassung	89
LXXXVI. Quellen	90
LXXXVII. Literaturverzeichnis	91
LXXXVIII. Zusammenfassung	92
LXXXIX. Quellen	93
LXXXX. Literaturverzeichnis	94
LXXXXI. Zusammenfassung	95
LXXXXII. Quellen	96
LXXXXIII. Literaturverzeichnis	97
LXXXXIV. Zusammenfassung	98
LXXXXV. Quellen	99
LXXXXVI. Literaturverzeichnis	100

Meinen verehrten Eltern

gewidmet

Inhaltsverzeichnis

A. Einleitung	1
B. Theoretische Vorbemerkungen	2
I. Das Wesen der Immunantwort	2
II. Der feed back - Mechanismus	6
C. Material und Methoden	16
I. Tiere	16
II. Antiseren	16
III. Nachweis spezifischer Antikörper	17
IV. Herstellung der Immunkomplexe	18
V. Nachweis der Primärantwort	18
VI. Nachweis der blockierenden Wirkung von Antiseren....	
auf Anti-Hammelerythrozyten-Seren	20
D. Ergebnisse	30
E. Diskussion	35
F. Zusammenfassung	40a
G. Literaturverzeichnis	41

A. Einleitung

Die Einzelschritte der Immunantwort von der Erkennung des Antigens bis zu seiner Elimination sind heute bis ins Detail bekannt. Durch die Möglichkeit einer quantitativen Erfassung der humoralen Immunantwort auf zellulärer Ebene wurde in diesem Zusammenhang ein Regelmechanismus aufgedeckt, der eine Begrenzung der Immunreaktion bewirkt. Die dem Immunsystem eigene Dynamik läßt eine Manipulation der Immunreaktion mit Hilfe des entsprechenden Antikörpers zu. Wie inzwischen gezeigt worden ist, dominiert die Spezifität des verwendeten Antikörpers über seine Herkunft, was schon aus der Effizienz seiner antigenbindenden Abschnitte zu schließen war. Die Beschränkung des wirksamen Prinzips auf den spezifisch reagierenden Anteil des Immunproteins hat den Schluß zugelassen, daß eine Bindung der passiv applizierten Antikörper am entsprechenden Immunprotein eine Blockierung mit einem Verlust der Hemmungsfähigkeit auf der Grundlage eines Rückkoppelungsmechanismus zur Folge hat. Dies sollte in den vorliegenden Untersuchungen geprüft werden, wobei die zelluläre Antikörperbildung mit der lokalen Hämolyse in Gel (Plaque-Technik) quantitativ erfaßt und zum Maßstab für die Stärke der primären Immunreaktion gewertet wurde.

B. Theoretische Vorbemerkungen

I. Das Wesen der Immunantwort

Es mußte zunächst als Voraussetzung für das Auffinden des Regelmechanismus der Immunantwort die Kenntnis geschaffen werden über die einzelnen zur Antikörper (AK) - Bildung führenden Schritte. Es ist daher angezeigt, kurz das Wesen der Immunantwort aufzuzeigen.

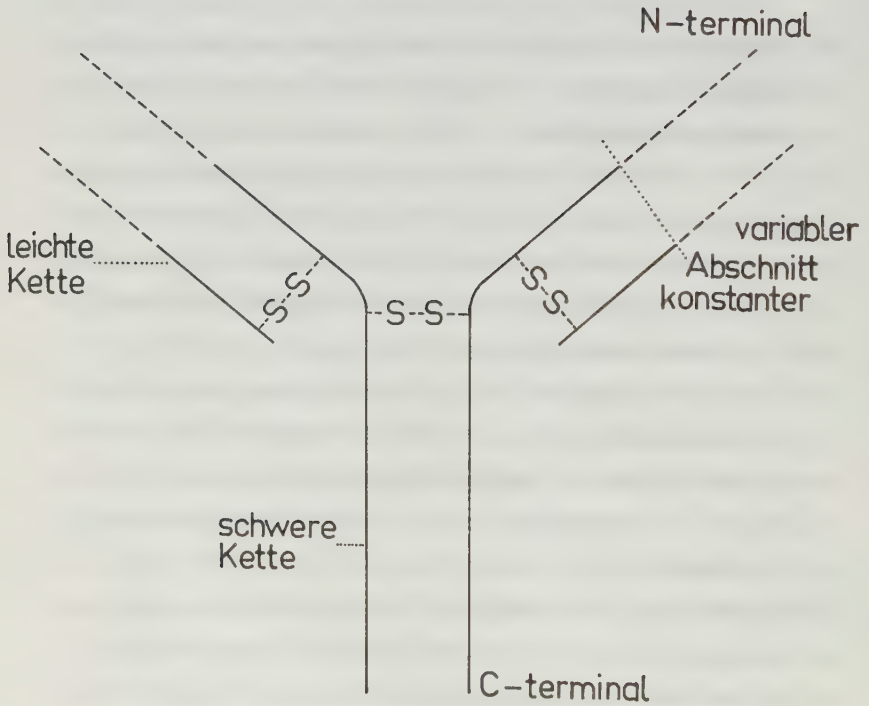
Jeder Organismus ist bestrebt, fremde Substanz zu eliminieren. Er bewerkstelligt dies einmal auf dem unspezifischen Weg der Exkretion und der Degradation, zum anderen in dem spezifischen Vorgang der Immunantwort. Dieses immunologische System bietet ihm also auch bei späterem nochmaligem Kontakt mit derselben Noxe einen wirksamen Schutz. Als "fremd" wird in erster Linie Eiweiß gewertet, es können aber auch Polysaccharide als Antigen wirken. Anders verhalten sich niedermolekulare Substanzen; sie geben erst bei Koppelung an ein Protein, das einem fremden oder auch dem eigenen Organismus entstammt, eine Immunantwort. Liegen einfache, chemisch definierbare Stoffe vor, so kann durch Abspalten oder Hinzufügen weiterer Gruppen leicht deutlich gemacht werden, wo am Molekül die spezifische Komponente für die Immunantwort sitzt. Bei Gebilden mit chemisch kompliziertem Aufbau, beispielsweise bei Bakterien, spielen die Ober-

flächenstrukturen die Rolle der definierten Substanz. Demnach ist auch erklärlich, daß solche Antigene eine vielfältigere Immunantwort induzieren und somit mehrere Antikörper unterschiedlicher Spezifität produzieren.

Gelangt nun ein Antigen in den Organismus, so wird es von Makrophagen abgefangen und aufgenommen. Hier wird dieses phagozytierte Antigen an eine m-RNS gekoppelt. Das spezifische Substrat hierfür sind die Lymphoidzellen, denn an sie erfolgt jetzt die Weitergabe der Information für die Immunglobulinsynthese. Diese Lymphoidzellen sind differenzierungsfähige Zellen: sie entwickeln sich entweder zu AK-bildenden Zellen, sogenannte Plasmazellen, oder sie werden Lymphozyten, die in der Lage sind, mit dem entsprechenden Antigen direkt zu reagieren. Die zur Immunglobulinsynthese angeregten Zellen unterliegen nun dem Prozeß der Vermehrung, zeigen Aktivitätsveränderungen im Bereich der Ribosomen und reifen zu einer Population oder sog. Clon von AK-bildenden Zellen aus. Sie synthetisieren ein spezifisches Globulin (das Immunglobulin) und sind nicht mehr zur Zellteilung fähig, wodurch nicht nur die Anzahl, sondern auch das Ausmaß der Produktion in Grenzen gehalten wird. Die Summe der von den verschiedenen Cloni produzierten Immunglobuline bilden die γ -Globulinfraktion des Serums.

Abb.1

Aufbau eines Immunglobulinmoleküls



--S-S-- = Disulfidbrücken

Aufbau und chemische Zusammensetzung der Immunglobuline sind bekannt. Untersuchungen mit Cystein und Papain ergeben, daß sie aus vier Polypeptidketten bestehen, von denen je zwei identisch sind. Man unterscheidet zwei leichte L-Ketten (light chains) und zwei schwere H-Ketten (heavy chains), die durch Disulfidgruppen jeweils untereinander gekoppelt sind (siehe Abb. 1).

Die H-Ketten der Immunglobuline bestimmen die Zugehörigkeit zu den einzelnen Untergruppen, die als IgA, IgM, IgD, IgE oder IgG bezeichnet werden. Der für die Antigenbindung entscheidende Bereich wird jeweils von den N-terminalen Enden der H- und L-Ketten gemeinsam gebildet. Ein Antikörper verfügt demnach über zwei Antigen-determinierende Valenzen, d. h. er ist bivalent. Deshalb ist dieser variable Teil für die Erforschung der Spezifität der Immunglobuline von besonderem Interesse.

Einzelheiten über die AK-Synthese sind heute bereits erforscht und bis ins Detail bekannt. Offen sind derzeit nur noch Fragen mit Bezug auf die Rekrutierung von Immunozyten zur Immunantwort und die Heterogenität der Immunitätsproteine.

Es bestehen heute im wesentlichen zwei Theorien über die Bildung von Antikörpern, die selektive Theorie und die instruktive Theorie.

Die selektive Theorie geht von der Vorstellung aus, daß nur spezifisch kompetente Zellen zur AK-Bildung in der

Lage sind; dabei ist die Sequenz der Aminosäuren, aus denen die Immunproteine zusammengesetzt sind, genetisch in der Basensequenz der DNS festgelegt. Dies hat zur Folge, daß eine bestimmte, vergleichsweise niedrige Anzahl spezifischer Zellen, die zur AK-Bildung befähigt sind, für jedes nur denkbare Antigen vorhanden ist. Man nennt diese Globuline auch die natürlichen Antikörper. Sie sind in Spuren im Serum vorhanden, ohne daß eine vorhergehende Stimulation erkennbar erfolgt ist. Die Theorie der vorgebildeten Antikörper ist nur plausibel mit der Vorstellung, daß eine große Anzahl verschiedener struktureller, d. h. also spezifischer Antideterminanten vorliegen. Die Antigene sind jedoch ihrem Aufbau nach unbegrenzt variabel, so daß es nur für eine begrenzte Anzahl von Antigenen einen ganz spezifischen Antikörper geben kann; für andere muß die Rolle des spezifischen Antikörpers ein möglichst in seiner Struktur ähnlicher übernehmen. Somit erklärt sich die unterschiedliche Bindungskapazität einzelner Antikörper.

Die instruktive Theorie demgegenüber geht von der Vorstellung aus, daß die Formation der spezifischen Antideterminanten eines Antikörpers nach einer Matrize vorgenommen wird, die sich am Antigen orientiert. Vom Makrophagen, der das Antigen an eine m-RNS koppelt, würde instruktives Material an Lymphozyten abgegeben, in denen dann die spezifische Immunglobulinsynthese entsprechend

dem informativen Komplex eingeleitet wird.

Das Ausmaß der Immunantwort richtet sich in erster Linie nach der Menge des Antigens und dem Verabreichungsmodus. Daneben spielen weitere Faktoren, etwa genetische Konstellation oder gleichzeitiges Angebot anderer Antigene, eine bedeutsame Rolle. In allen Fällen läßt sich eine prinzipiell ähnliche Dynamik der Immunantwort nachweisen, deren hervorstechendes Merkmal die Limitierung des Sensibilisierungsprozesses darstellt. Hierfür bieten sich mehrere Erklärungen an, von denen die Annahme eines Rückkoppelungsmechanismus auf das größte Interesse gestoßen ist.

II. Der feed back-Mechanismus

Bereits 1921 wurde die erstaunliche Beobachtung gemacht, daß die Induktion der primären Immunantwort unterdrückt werden kann, wenn dem Antigen vor der Applikation der korrespondierende Antikörper im Überschuß zugemischt worden ist (7, 28, 30). Dieses Phänomen war nur durch Anwendung der entsprechenden Reaktionspartner zu beobachten und ließ daher den Schluß zu, daß die inhibierende Wirkung des zuvor zugemischten Antikörpers auf einer Bindung und somit auch Blockierung der antigenen Determinanten beruht (19, 21, 31). Dabei ist eine Erklärung auf Grund die-

ses Modus allein nicht ausreichend, da unter Berücksichtigung der Mengenverhältnisse die Blockierung einer vergleichsweise geringen Anzahl von antigenen Determinanten ausreichend ist, um eine derartige Hemmwirkung zu erzielen (11, 30). Deshalb ist es naheliegend, anzunehmen, daß bereits eine Veränderung des oberflächlichen Antigenmusters genügt, um einen ausreichenden Kontakt zwischen immunkompetenten Zellen und antigenen Strukturen zu verhindern (1). Die durch den Antikörper erzwungene Trennung des Antigens von der Immunzelle ist sowohl in vitro als auch in vivo zeitlich begrenzt. Dies läßt sich insbesondere da demonstrieren, wo der korrespondierende Antikörper langsamer abgebaut wird als das Antigen, wie es bei homologen Seren der Fall ist (6, 31). Hier tritt die primäre Immunantwort verzögert auf (31). Umgekehrt kann aber auch ein Antikörper die Induktion der primären Immunantwort stimulieren. Solche Verhältnisse finden sich bei löslichen antigenen Faktoren, die auf Grund ihrer Struktur als schwache Immunogene zu bezeichnen sind und erst im Verein mit dem entsprechenden Antikörper als Komplex eine stärkere Immunogenität entwickeln können (22). Mehr ist über diese Zusammenhänge zur Zeit nicht bekannt. In gewisser Weise wird dieses Phänomen ergänzt durch die Tatsache, daß, etwa nach Applikation von Antikörpern gegen Serumalbumin, die Abbaurate rapide herabgesetzt wird (1). In der Regel wird jedoch die Immunogenität von antigenen

Faktoren durch die Beimischung der entsprechenden Antikörper geringer. Die unterschiedliche Wertigkeit der zugeführten Antikörper bezüglich der Immunglobulinklassen hat sich sowohl im Maus-Anti-Schafsystem als auch beim Menschen demonstrieren lassen (15, 21, 8).

In den meisten Fällen einer induzierten Primärantwort unter gleichzeitiger Applikation des Antikörpers findet sich eine herabgesetzte Immunantwort. Die dabei zu berücksichtigenden Überlegungen werden dadurch in Richtung einer Regelung im Sinne einer Rückkoppelung gelenkt, daß dieser Hemmeffekt auch dann noch hervorgerufen werden kann, wenn die Induktion der zellulären AK-Bildung bereits stattgefunden hat, wobei das Intervall von einigen Tagen (14, 21, 25, 31) bis zu zwei Monaten (33) betragen kann. Die unterschiedlichen Zeitabstände, bei denen dies noch möglich ist, hängen mit dem Abbau des Antigens zusammen. Eine Möglichkeit, die Hemmwirkung des Antikörpers auf seine eigene Produktion zu erklären, kann im Sinne einer Blockierung der antigenen Determinanten geschehen. Dies würde eine Beeinflussung der Immunantwort im sog. peripheren Schenkel bedeuten, d. h. im Sinne einer Antigen-Elimination noch vor dem Kontakt mit immunkompetenten Zellen. Daneben kann auch eine direkte Wirkung des Antikörpers auf die Immunzelle selbst angenommen werden, wodurch der sog. zentrale Schenkel beeinflusst würde (23, 24, 31). Die-

se Annahme wird durch eine Hemmung der Immunantwort unterstützt, wenn isolierte unsensibilisierte Milzzellen vor der Primärantwort in vitro mit dem Antigen in Kontakt gebracht worden sind. Die Untersuchung verschiedener Antigen-Antikörper-Systeme hat jedoch diesbezüglich widersprüchliche Ergebnisse gezeigt (19, 23, 24). Sofern das zuerst erwähnte System verwendet wird, und Milzzellen mit Zellen aus dem Ductus thoracicus vertauscht werden, ist eine derartige Behinderung durch vorherigen Antigenkontakt nicht nachweisbar. Dies kann durch Antikörper erklärt werden, welche die Immunzellen umgeben haben und durch das Waschen nicht entfernt worden sind (23, 24). Durch eingehenderes Waschen konnte in der Tat eine Änderung der Ergebnisse erzielt werden, so daß diese Deutung wahrscheinlich ist. Der durch Antikörper verursachte Hemmeffekt kann durch eine Verlängerung des Kontaktes mit immunkompetenten Zellen nicht gesteigert werden, woraus sich die Annahme ergibt, daß der inhibierende Effekt sehr kurzfristig ist, sofern man eine sog. zentrale Inhibierung annimmt. In diesem Zusammenhang gewinnt die Tatsache Bedeutung, daß nicht der komplette Antikörper erforderlich ist, um die spezifische Hemmung der Immunantwort hervorzurufen, sondern daß der Antigen-bindende Abschnitt hierfür genügt. Die Frage der zentralen oder peripheren Inhibierung läßt sich jedoch auch hierdurch nicht eindeutig klären (29).

Weitergehende Untersuchungen befaßten sich damit, ob die unterschiedlichen Immunglobuline gleicher Spezifität eine verschieden starke Wirkung im Sinne der Regulation entfalten (21, 33).

Es konnte gezeigt werden, daß sämtliche Immunproteine ihre Hemmwirkung erst nach einer gewissen Latenzperiode ausüben. Dies kann in gleicher Weise durch eine Elimination antigener Determinanten erfolgt sein, wie auch durch eine Hemmwirkung auf die Zellen selbst, nachdem die Induktion der AK-Bildung bereits stattgefunden hat. Hierbei ergeben sich auf Grund der Kinetik immunkompetenter Zellen interessante Aspekte:

sofern Antikörper, die nach dem Höhepunkt der Immunproteinsynthese appliziert worden sind, eine Hemmung der zellulären AK-Synthese auf Grund einer Blockierung antigener Determinanten bewirken, muß angenommen werden, daß der größte Teil der Immunprotein-synthetisierenden Zellen im Vergleich zur beobachteten Primärantwort kurzlebig ist (33). Diese Vermutung hat sich durch Studien mit radioaktiv markierten Zellen stützen lassen. Sie konnten zeigen, daß die Mehrzahl der Plasmazellen in der Maus (34) sowie weiterer Nagetiere (9) im Schnitt nur zwei Tage aktiv sind und nur eine vergleichsweise geringfügige Population aus dem Kontingent dieser Zellen mehrere Monate überleben kann (18). Diese Beobachtung läßt den Schluß zu, daß das Antigen auf die Plasmazelle mit Bezug auf

deren Lebenszeit keinen Einfluß gewinnt (10, 34). Auf Grund dieser Annahme muß zugleich gefolgert werden, daß insbesondere diejenigen Zellen, die Immunproteine der 7S-Klasse bilden, eine gesteigerte Überlebenszeit haben. Die Verhältnisse werden hier einerseits durch die außerordentlich niedrige Konzentration des Antigens wie auch durch die abfallende Neuproduktion der 7 S-Globuline bestimmt. Entsprechend der autoradiographischen Studien zur Lebensdauer der Plasmazellen wurden tatsächlich in der langlebigen Fraktion vorwiegend 7 S-Bildner gefunden (18).

Neuere Erkenntnisse bezüglich der Kinetik und Spezifität der Antikörper im Verlauf einer primären Immunreaktion und ihre Befähigung zur Unterdrückung der Immunantwort haben die angesprochenen Fragen nicht klären können. Es sind jedoch entscheidende Einblicke in die Induktion beziehungsweise in die Rekrutierung der Immunozyten bei der Primärantwort gewonnen worden. Im allgemeinen nimmt die Spezifität der Antikörper im Verlauf der Immunantwort zu. Die Bindungsfähigkeit kann hierbei auf das Tausendfache anwachsen (13). Dieser Anstieg der Bindungsfähigkeit der Antikörper steht in direktem Zusammenhang mit der Menge des applizierten Antigens; und zwar ist eine Zunahme der Spezifität der Antikörper insbesondere da zu beobachten, wo nur geringe Antigenmengen verabreicht worden sind. Die Ursache für diese Kinetik kann folgendermaßen definiert werden: sofern eine große Menge Antigens

appliziert wird, werden auch eine große Anzahl von Plasmazellen durch dieses Antigen stimuliert werden, wobei wegen des großen Angebotes nicht nur Plasmazellen mit der höchsten Spezifität, sondern auch solche mit geringerer Spezifität zur Immunantwort angestoßen werden. Die Folge ist ein breites Spektrum von Antikörpern mit unterschiedlicher Bindungsfähigkeit. Auf Grund einer Konkurrenzreaktion werden diejenigen Zellen selektiert, deren Immunproteine eine besonders hohe Spezifität gegenüber dem Antigen aufweisen, so daß die Palette der AK-bildenden Plasmazellen im Verlaufe der Primärantwort und dann auch der Sekundärantwort immer kleiner wird. Dieser Ausleseprozeß wird in verstärktem Maße in Gang gesetzt, wenn nur eine geringe Antigenmenge appliziert wird, weil hier nur diejenigen Zellen selektiv angestoßen werden, die zur Produktion eines hoch spezifischen Antikörpers in der Lage sind.

Eine unterschiedliche Hemmfähigkeit weisen Antikörper der verschiedenen Immunglobulinfraktionen auf; obgleich im Prinzip sowohl 19 S- als auch 7 S-Antikörper eine Hemmung der Immunantwort herbeiführen können (14, 19, 21, 23), läßt sich generell feststellen, daß Antikörper des Typ IgM weniger effektiv sind als solche vom Typ IgG (14, 21). Hier ist allerdings zu berücksichtigen, daß die IgM-Antikörper insbesondere in der Frühphase der primä-

ren Immunantwort auftreten und von IgG-Antikörpern abgelöst werden (23, 26). Mit Bezug auf die Überlegungen der zunehmenden Bindungsfähigkeit von Antikörpern im Verlauf einer Primärantwort ergibt sich eine Beziehung, in der schließlich IgG-Antikörper effizienter sind als IgM-Antikörper. Damit ist die Beobachtung einer erhöhten Bindungsfähigkeit im Verlaufe einer Immunantwort wiederum bestätigt (14, 27, 32).

Sofern ein Rückkopplungsmechanismus im Sinne einer Endprodukthemmung angenommen werden kann, lassen sich verschiedene Eigenarten definieren:

1. Es handelt sich um einen spezifischen Mechanismus, d.h. ein Antikörper kann immer nur seine eigene Produktion hemmen.
2. Das wirksame Prinzip ist an den Abschnitt des Antikörpers gebunden, der das Antigen binden kann.
3. Die Hemmwirkung setzt nicht sofort ein, sondern bedarf einer gewissen Latenzzeit, was auf die bereits induzierte Immunantwort in einem Teil der Immunozyten zurückzuführen ist.
4. Die Hemmung der Immunantwort beruht auf einer herabgesetzten Anzahl von AK-bildenden Zellen, deren Syntheserate jedoch nicht herabgesetzt ist.
5. Eine Hemmung ist bei jedem weiteren Antigenkontakt schwieriger zu erreichen, woraus auf eine Stabilität des immunologischen Gedächtnisses geschlossen werden kann.

6. IgG-Antikörper zeigen eine stärkere Effizienz als IgM-Antikörper.
7. Die Hemmwirkung ist um so effektiver, je größer die Bindungsfähigkeit der Antikörper ist.

Beide heute diskutierten Hypothesen einer Regelung der Immunantwort einerseits auf dem Wege einer Antigenelimination und damit einer Beeinflussung der Störgrößen-aufschaltung und andererseits einer Regelung im Sinne einer Rückkoppelung durch Endprodukthemmung besitzen heute noch Gültigkeit. Es besteht jedoch kein Zweifel, daß eine Hemmung der Immunantwort durch die passive Zufuhr des Antikörpers erreicht werden kann.

Die aufgezählten Kriterien mit Bezug auf die Eigenart der Antikörper, die nach passiver Zufuhr eine Hemmung der Immunantwort bewirken sollen, geben nur Auskunft über Spezifität und Avidität. Im Hinblick auf die Herkunft dieser Antikörper ist nichts ausgesagt. Es konnte jedoch gezeigt werden, daß auch speziesfremde Antikörper mit geeigneter Avidität ebenfalls eine Hemmung der Primärantwort bewirken können (2). Dies gelingt sogar dann, wenn nicht diese Antikörper selbst, sondern die für ihre Produktion verantwortlichen Immunzellen übertragen werden (3). Die durch die Histoinkompatibilität ausgelöste Immunelimination der übertragenen Zellen be-

grenzt allerdings die Hemmwirkung in zeitlicher Hinsicht. Die Versuchsanordnung läßt daher eine Aussage, ob die abgegebenen Antikörper durch entsprechende spezifische Immunglobuline ebenfalls inaktiviert oder eliminiert werden, nicht zu. Dies sollte in den vorliegenden Untersuchungen gesondert geprüft werden. Hierbei wurde die blockierende Effizienz verschiedener Antikörper auf Seren mit Bezug auf deren Fähigkeit, die Primärantwort nach passiver Übertragung zu unterdrücken, demonstriert.

C. Material und Methoden

I. Tiere

Es wurden Mäuse des Inzuchtstammes C 57 black verwendet. Sie waren sämtlich weiblichen Geschlechts. Ihr Durchschnittsgewicht betrug 25 bis 30 Gramm, das Alter betrug mindestens 6 Monate. Sie wurden in Gruppen zu 6 bis 8 Tieren in einzelnen Käfigen gehalten. Die Ernährung erfolgte mit Trockenfutter und Leitungswasser.

II. Antiseren

1. Gegen Hammelerythrozyten (HE):

Hierbei wurde ein käufliches Handelspräparat verwendet, dessen Titer mit 1 : 6000 im Hämolyseversuch bestimmt worden war. Es stammte von Kaninchen.

2. Gegen Kaninchen:

- a. für einen Teil der Untersuchungen wurde ebenfalls ein im Handel erhältlichliches Serum von der Ziege der Firma Behring-Werke AG verwendet.
- b. ein anderer Teil der Untersuchungen wurde mit Anti-Kaninchenserum von Mäusen durchgeführt. Hierzu wurden 12 Mäuse des Inzuchtstammes C 57 black durch wöchentliche intramuskuläre Injektion von insgesamt 4x jeweils 0,5 ml frischen Kaninchensерums sensibi-

lisiert. Nach Auftreten der spezifischen Antikörper (siehe Abschnitt III) wurden sämtliche Mäuse entblutet, anschließend wurde das Serum gewonnen.

III. Nachweis spezifischer Antikörper

1. Der orientierende Nachweis spezifischer Antikörper erfolgte durch die zweidimensionale Doppeldiffusion in 1 %igem Agar in feuchter Atmosphäre bei Zimmertemperatur über 48 Stunden. Hierbei wurden Ansätze einerseits mit dem Kaninchenserum (siehe Abschnitt II) und dem Anti-Kaninchenserum von der Ziege (siehe Abschnitt II) sowie andererseits mit Kaninchenserum (wie oben) und Anti-Kaninchenserum der Maus vorgenommen. Praezipitierende Antikörper fanden sich gegen unterschiedliche Komponenten des Kaninchenserums.

2. Immunelektrophorese:

Sie wurde in der üblichen Mikrotechnik auf Objektträgern in 1 %igem Agar bei pH 7,6 vorgenommen. Die Trennung im elektrischen Feld erfolgte bei 8 mA je Objektträger über eine Zeit von 120 Minuten. Die anschließende Immundiffusion erfolgte bei Zimmertemperatur in der feuchten Kammer über 24 Stunden. Die einzelnen Partner wurden wie in der Doppeldiffusion gewählt, wobei jedoch abwechselnd der eine oder andere Reaktant elek-

trophoretisch aufgetrennt wurde.

IV. Herstellung der Immunkomplexe

In kleinen spitzen Reagenzgläsern wurden Verdünnungsreihen der einzelnen Partner (siehe Abschnitt II u. III) bei Zimmertemperatur in unterschiedlichem Mengenverhältnis vermennt, anschließend wurde die Präzipitation abgewartet. An Hand der raschest und stärkst einsetzenden Präzipitationsreaktion wurde der Äquivalenzbereich ermittelt. Er betrug für das System des Kaninchenserums und Anti-Kaninchenserums (Ziege) 1:4 V/V, für das System Kaninchenserum und Anti-Kaninchenserum der Maus 1 : 2 V/V.

V. Nachweis der Primärantwort

Der Nachweis der Primärantwort erfolgte durch Demonstration der zellulären AK-Bindung. Hierzu wurde die Plaque-Technik in üblicher Weise herangezogen (12, 17, 16). Im einzelnen wurden hierzu folgende Schritte unternommen: Mäuse des Inzuchtstammes C 57 black wurden intraperitoneal (i.p.) mit 4×10^8 gewaschenen und in gepufferter Kochsalzlösung suspendierten HE sensibilisiert. Acht Tage später

wurden die Tiere getötet, die Milz entnommen. Das von Fett und Bindegewebe befreite Organ wurde durch ein steriles Stahlsieb gepreßt, einzelne Milzzellen wurden isoliert. Nach mehrfachem Waschen wurden diese Milzzellen zusammen mit HE in gepuffertem Agar eingebettet. Die jeweiligen Mengen, bezogen auf eine Petrischale von 8 cm Durchmesser, betrugen 10^6 Milzzellen und 4×10^8 Hammelerythrozyten. Nach Erstarren des Agars wurden die Platten für 90 Minuten bei 37°C bebrütet. Zum Nachweis 19 S-Immunglobulin-bildender Zellen wurde nunmehr Kaninchenkomplement zugegeben und eine weitere Bebrütung für 60 Minuten angeschlossen. Einzelne 19 S-Globulin-produzierende, im folgenden direkt Plaque-bildende Zellen (DPMZ) genannte Milzzellen ließen sich durch kleine hämolytische Höfe identifizieren. Die Stärke der Immunantwort konnte aus der Anzahl der DPMZ je 10^6 ermittelt werden.— Zum Nachweis der 7 S-Immunglobulin-bildenden Milzzellen wurde ein Zwischenschritt eingeschaltet, bei dem ein Anti-Maus-Globulinserum als sog. Entwicklerserum vor der Komplementbeimischung zugegeben wurde. Dadurch wurden die 7 S-Immunglobulin-bildenden, im folgenden indirekt Plaque-bildenden Milzzellen (IPMZ) genannten Milzzellen in gleicher Weise identifiziert.

VI. Nachweis der blockierenden Wirkung von Antiseren auf Anti-HE-Seren

1. Heterolog-heterologes-System

Zur Prüfung eines Einflusses heterologer Seren auf Kaninchen-Anti-HE-Serum wurden die Untersuchungs-serien so angelegt, daß die Versuchstiere am Tage der Sensibilisierung mit HE auch Anti-HE-Serum bzw. Anti-HE-Serum und Anti-Kaninchenserum erhielten. Das Anti-HE-Serum vom Kaninchen wurde i.p. (Serie A) bzw. i.m. (Serie B) verabreicht. Serie C erhielt Anti-HE-Serum vom Kaninchen und Anti-Kaninchen-Serum von der Ziege getrennt i.p. Eine weitere Serie D erhielt bereits in vitro mit Anti-Kaninchen-Serum vermengtes Anti-HE-Serum vom Kaninchen. Als Kontrolle diente eine Serie E, die normales Kaninchenserum erhalten hatte. Eine weitere Kontrollserie F wurde lediglich mit HE sensibilisiert.

2. Heterolog-isologes-System

Zur Prüfung eines Einflusses isologer Seren auf Kaninchenserum mit Anti-HE-Eigenschaft wurden am Tage der Sensibilisierung mit HE zwei Serien jeweils mit Anti-HE-Serum vom Kaninchen und Anti-Kaninchen-Serum von der Maus inokuliert; bei Serie G wurden beide Seren getrennt i.p. injiziert, bei Serie H wurden

beide Seren in vitro vermenegt und anschließend appliziert. Als Kontrollserie I diente eine Gruppe von Tieren, die lediglich Anti-Kaninchen-Serum ebenfalls i.p. erhalten hatten. Eine weitere Kontrollserie K wurde allein mit HE sensibilisiert.

Die Prüfung der primären Immunantwort erfolgte 8 Tage später durch Nachweis der zellulären AK-Bildung (siehe Abschnitt V).

3. Heterolog-autologes-System

Diese Versuchsreihen dienten dem Nachweis der in vitro Inaktivierung passiv zugeführter Antikörper durch körpereigene spezifische Immunproteine. Hierzu wurde eine Serie L durch wöchentliche Injektion von insgesamt 4 x 0,5 ml Kaninchenserum gegen dieses Fremdeiweiß sensibilisiert. Danach erfolgte die Sensibilisierung gegen HE. Am gleichen Tage wurde Anti-HE-Serum vom Kaninchen i.p. verabreicht. Eine weitere Serie M wurde in gleicher Weise vorbehandelt; hier erfolgte jedoch die Applikation des Anti-HE-Serums vom Kaninchen i.m. Als Kontrolle diente eine Serie N, die lediglich gegen HE sensibilisiert worden war.

Die Prüfung der primären Immunantwort erfolgte 8 Tage später durch den Nachweis der zellulären AK-Bildung.

Die Versuchsanordnung ist in den folgenden Skizzen schematisch dargestellt.

Tab. 1

Nachweis der blockierenden Wirkung von Antiseren auf Anti-HE-Seren
im heterolog-heterologen-System

Einzelwerte

Serie	DPMZ in 10^6						IPMZ in 10^6					
A	19	20	22	24	28	29	28	29	30	30	31	35
B	31	34	37	39	41	48	49	52	55	55	60	65
C	20	23	23	26	28	29	28	30	35	36	39	41
D	40	51	53	57	63	68	59	70	72	74	75	79
E	159	178	184	191	198	208	202	209	215	221	229	240
F	176	194	211	212	220	223	225	236	246	261	269	279

Statistische Auswertung

Serie	DPMZ in 10^6			IPMZ in 10^6		
	$\bar{x}$	s	$\bar{s}$	$\bar{x}$	s	$\bar{s}$
A	23,66	4,15	4,37	30,50	2,42	2,54
B	38,33	5,93	6,25	56,00	5,72	6,01
C	24,83	3,44	3,60	34,83	5,04	5,29
D	55,33	9,82	10,33	75,50	6,83	7,17
E	186,33	17,04	17,94	219,33	13,81	14,52
F	207,66	20,10	21,15	252,66	20,62	21,72

Legende siehe Tab. 3

Tab. 2

Nachweis der blockierenden Wirkung von Antiseren auf Anti-HE-Seren
im heterolog-isologen-System

Einzelwerte

Serie	DPMZ in 10^6						IPMZ in 10^6					
G	11	16	17	21	22	24	18	22	22	25	26	29
H	22	28	35	36	46	49	29	32	35	38	42	46
I	330	346	355	371	376	383	381	394	406	411	421	436
K	305	321	338	340	350	358	368	377	387	391	404	412

Statistische Auswertung

Serie	DPMZ in 10^6			IPMZ in 10^6		
	$\bar{x}$	s	$\bar{s}$	$\bar{x}$	s	$\bar{s}$
G	18,50	4,76	5,01	23,66	3,85	4,03
H	36,00	10,29	10,82	37,00	6,32	6,66
I	360,16	20,20	21,25	408,16	19,53	20,56
K	335,33	19,44	20,46	389,83	16,43	17,30

Legende siehe Tab. 3

Tab. 3

Nachweis der blockierenden Wirkung von Antiseren auf Anti-HE-Seren
im heterolog-autologen-System

Einzelwerte

Serie	DPMZ in 10^6						IPMZ in 10^6					
L	13	14	14	15	18	18	14	16	17	18	19	21
M	29	34	35	41	42	46	29	33	36	40	44	47
N	210	221	238	239	252	264	229	241	255	260	270	285

Statistische Auswertung

Serie	DPMZ in 10^6			IPMZ in 10^6		
	$\bar{x}$	s	$\bar{s}$	$\bar{x}$	s	$\bar{s}$
L	15,33	2,17	2,26	17,50	2,42	2,54
M	37,83	6,25	6,58	38,16	6,81	7,17
N	237,33	19,73	20,77	256,66	20,07	21,13

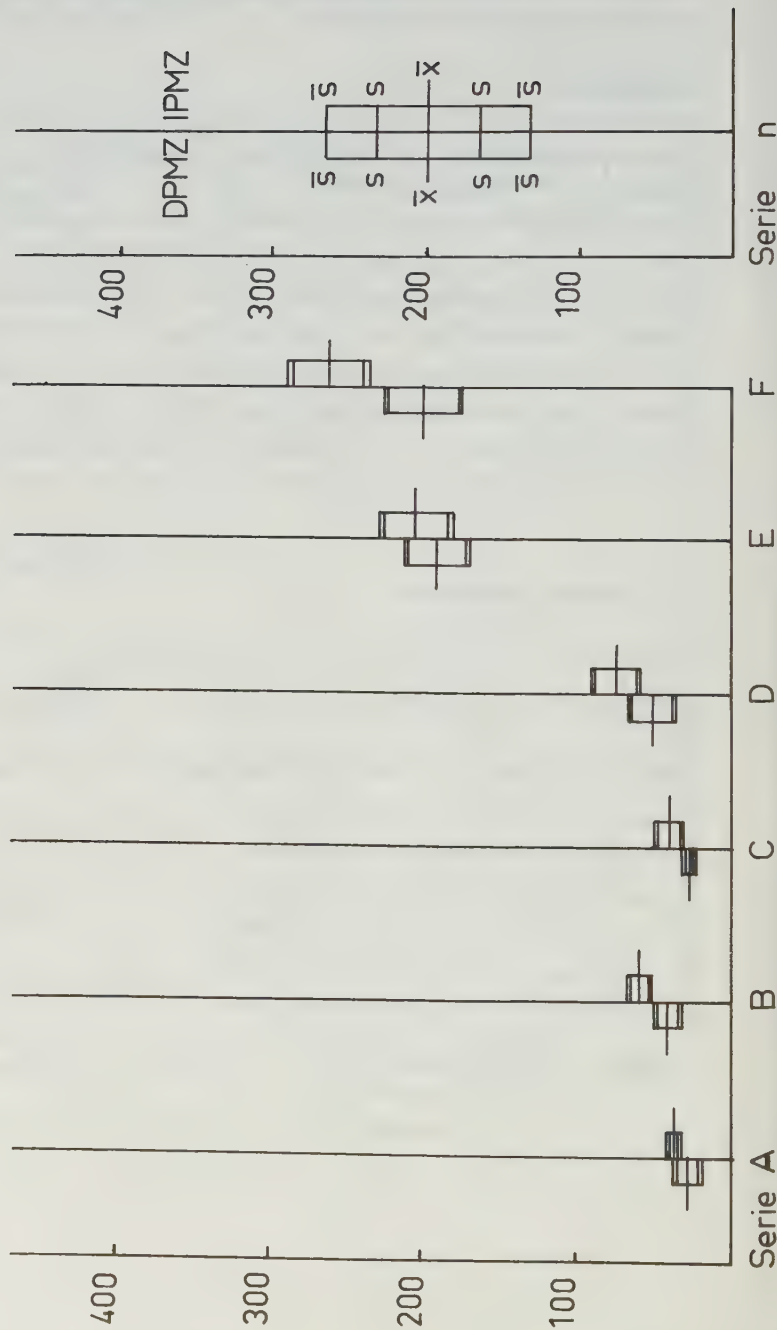
Legende: $\bar{x}$ = Mittelwert

s = Standardabweichung

$\bar{s}$ = Vertrauensgrenzen bei p kleiner 0,05

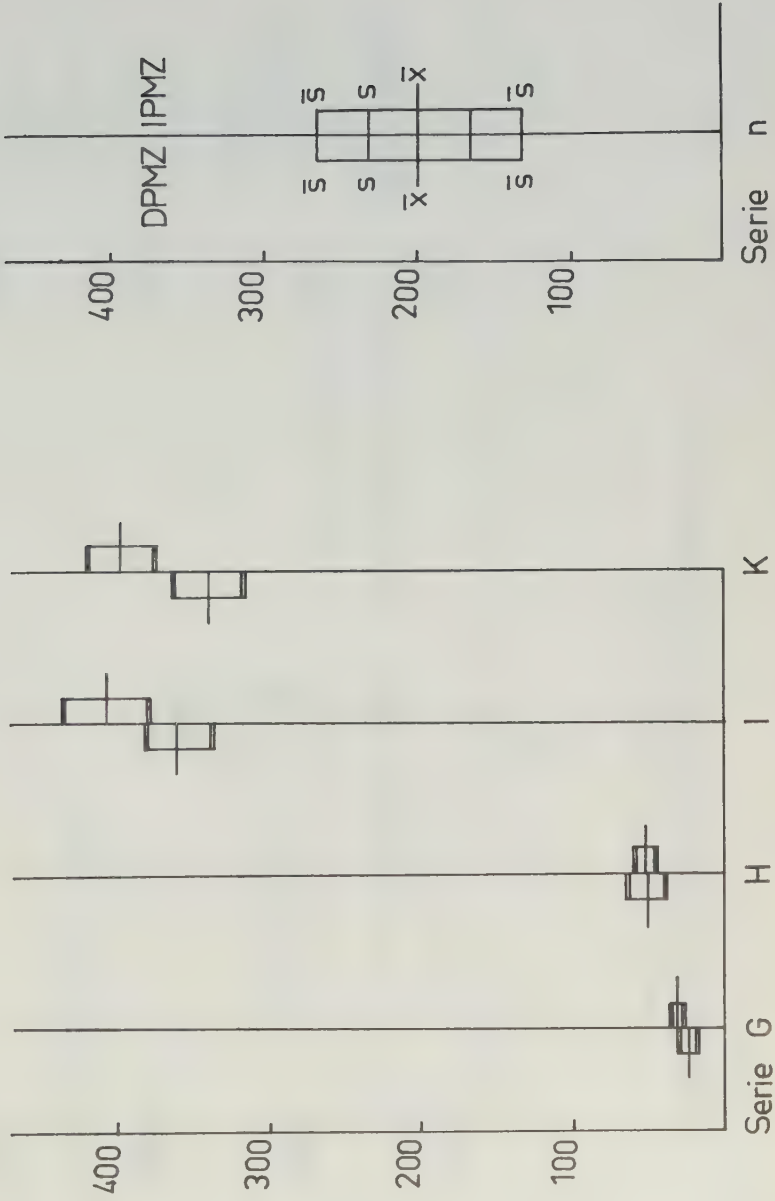
Tab. 4

Graphische Darstellung der Einzelergebnisse
heterolog-heterologes-System



Tab.5

Graphische Darstellung der Einzelergebnisse
heterolog – isolog – System



Tab.6
Graphische Darstellung der Einzelergebnisse
heterolog-autologes-System

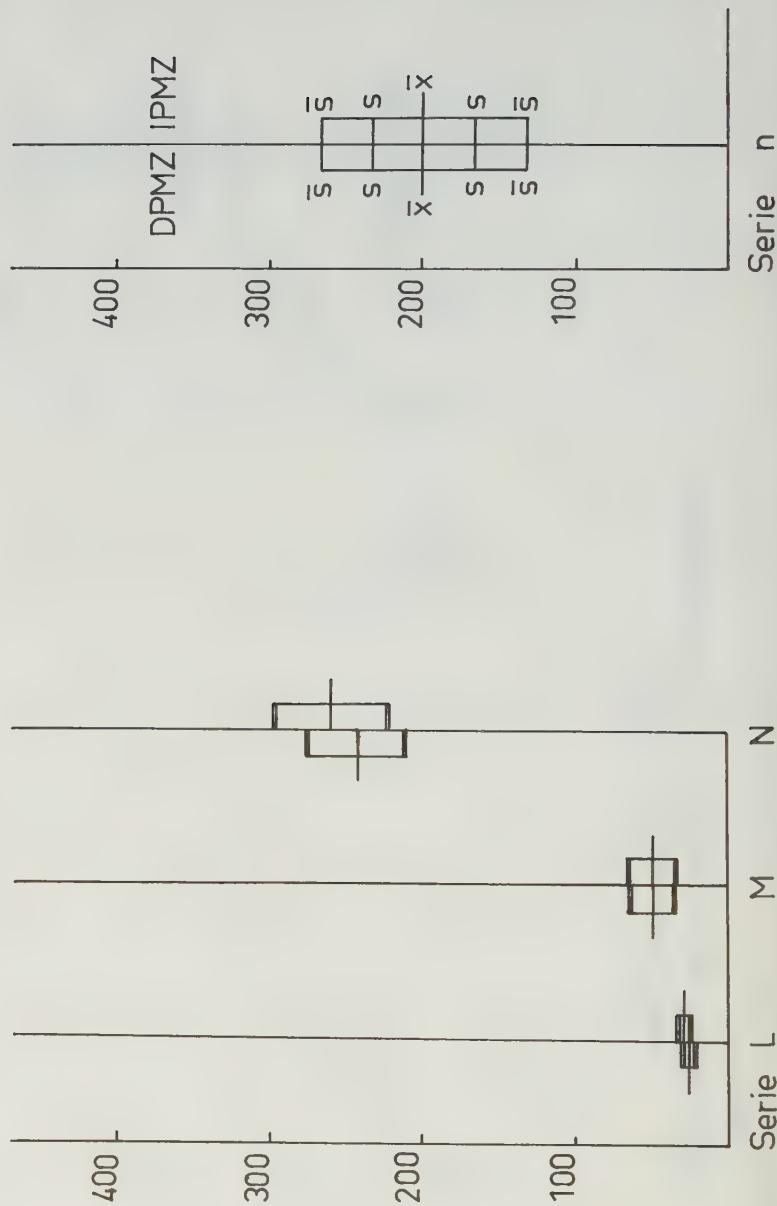


Abb. 2

Heterologes - heterologes - System

C 57 black-Mäuse

Serie A	+ Anti-HE-Serum (Kaninchen) i.p.	Sensibilisierung Mit HE	Prüfung der Primärantwort durch Bestim- mung der zellu- lären AK-Syn- these
Serie B	+ Anti-HE-Serum (Kaninchen) i.m.		
Serie C	+ Anti-HE-Serum (Kaninchen) + Anti-Kaninchen-Serum (Ziege)		
Serie D	+ Anti-HE-Serum (Kaninchen) + Anti-Kaninchen-Serum (Ziege)		
Serie E	+ Kaninchen-Serum (Komplexbildung in vitro)		
Serie F	+ ∅		
Tag 0			Tag 8

C 57 black-Mäuse

	Sensibilisierung		Tag 0		Tag 8	
Serie G	+ Anti-HE (Kaninchen)	+ Anti-Kaninchen (Maus)				
Serie H	+ Anti-HE (Kaninchen)	+ Anti-Kaninchen (Maus)				
Serie I		(Komplexbildung in vitro)				
Serie K		+ Anti-Kaninchen (Maus)				
		+ $\emptyset$				

Prüfung der
Primärantwort

Heterologes ~ autologes ~ System

C 57 black-Mäuse

Sensibilisierung mit Kaninchen-Serum								
	↑	↑	↑	↑	↑	Sensibilisierung mit HE		
Serie L	↑	↑	↑	↑	↑		+ Anti-HE (Kaninchen) i.p.	Prüfung der Primär- antwort
Serie M	↑	↑	↑	↑	↑		+ Anti-HE (Kaninchen) i.m.	
Serie N	↑	↑	↑	↑	↑		+ ∅	
Tag 0	7	14	21				35	43

D. Ergebnisse

Das allgemeine Verhalten der Tiere war durch die Behandlung nicht beeinträchtigt, insbesondere kam es nicht zu tödlichem Schock. Bei der Eröffnung der Leibeshöhle zeigte sich eine geringfügige Vergrößerung der Milz gegenüber unsensibilisierten Mäusen gleichen Alters und gleicher Rasse. In allen Fällen konnte bei den Kontrollserien eine gute primäre zelluläre AK-Bildung als Hinweis auf eine ungestörte immunologische Aktivität nachgewiesen werden. Die Anzahl der 19 S-Immunglobulin-Produzenten war gegenüber den 7 S-Immunglobulin-Bildnern leicht verringert, wie es im vorliegenden System üblicherweise angetroffen wird.

Antiseren gegen Kaninchen-Anti-HE-Serum

Nach der Sensibilisierung der Mäuse mit Kaninchenserum entwickelten sich Antikörper gegen die γ -Globulin-Fraktion, die mit der zweidimensionalen Immundiffusion und mit der Immunelektrophorese nachgewiesen werden konnten.

1. Nachweis der blockierenden Wirkung von Antiseren auf Anti-HE-Seren im heterolog-heterologen-System

Gegenüber der Kontrollserie F, die lediglich mit HE sensibilisiert worden war und zwischen 176 und 223 DPMZ

je 10^6 Milzzellen bei einem Mittelwert von 207,6 aufwies, war bei der Serie A, die am gleichen Tag Anti-HE-Serum i.p. erhalten hatte, die zelluläre AK-Bildung bei einer Anzahl von 19 bis 29 DPMZ je 10^6 Milzzellen und einem Mittelwert von 23,6 signifikant erniedrigt. Die für diese beiden Serien erhaltenen Werte mit Bezug auf die IPMZ lagen zwischen 225 und 279 bei einem Mittelwert von 252,6 beziehungsweise zwischen 28 und 35 bei einem Mittelwert von 30,5, jeweils in 10^6 Milzzellen. Die Serie B, welcher die gleiche Menge Anti-HE-Serum i.m. verabreicht worden war, zeigte mit 31 bis 48 DPMZ und einem Mittelwert von 38,3 je 10^6 Milzzellen ebenfalls eine signifikante Erniedrigung der zellulären AK-Bildung; dies wurde auch bei Nachweis der IPMZ bestätigt, die zwischen 49 und 65 bei einem Mittelwert von 56,0 lagen. Serie C, die Anti-HE-Serum vom Kaninchen und ein Anti-Kaninchen-Serum getrennt appliziert erhielt, bot mit 20 bis 29 DPMZ bei einem Mittelwert von 24,8 je 10^6 Milzzellen eine signifikant gehemmte primäre AK-Bildung. Dies wurde auch mit Bezug auf die IPMZ bei Werten zwischen 28 und 41 und dem Mittelwert von 34,8 bestätigt. In gleicher Weise war die zelluläre AK-Bildung bei der primären Immunantwort der Serie D, die einen bereits in vitro eingegangenen Komplex aus Anti-HE-Serum vom Kaninchen und einem Anti-Kaninchen-Serum erhalten

hatte, festgestellt; hier waren die DPMZ auf 40 bis 68 bei einem Mittelwert von 55,3 und die IPMZ auf 59 bis 79 bei einem Mittelwert von 75,5 jeweils auf 10^6 Milzzellen abgefallen. Serie E, die lediglich Kaninchen-Serum eines Normaltieres erhalten hatte, bot demgegenüber 159 bis 208 DPMZ mit einem Mittelwert von 186,3 und 202 bis 242 IPMZ bei einem Mittelwert von 219,3 eine im Vergleich zur Kontrollserie F ungestörte primäre Immunreaktion.

Die Einzelergebnisse sowie die statistische Auswertung sind in Tabelle 1 u. 4 zusammengefaßt.

2. Nachweis der blockierenden Wirkung von Antiseren auf Anti-HE-Seren im heterolog-isologen-System

Gegenüber der Kontrollserie K, die lediglich mit HE sensibilisiert worden war und deren zelluläre AK-Bildung durch 305 bis 358 DPMZ bei einem Mittelwert von 335,3 sowie durch 368 bis 412 IPMZ bei einem Mittelwert von 389,8 charakterisiert war, zeigte sich bei der Serie G, die getrennt Anti-He-Serum vom Kaninchen sowie Anti-Kaninchen-Serum von der Maus erhalten hatte, eine signifikante Hemmung der Primärantwort, die mit 11 bis 24 DPMZ bei einem Mittelwert von 18,5 und mit 18 bis 29 IPMZ bei einem Mittelwert von 23,6 bestimmt wurde. Bei der Serie H, die Anti-

HE-Serum vom Kaninchen und Anti-Kaninchen-Serum von der Maus bereits als Komplex erhalten hatte, war die zelluläre AK-Bildung bei 22 bis 49 DPMZ und einem Mittelwert von 36,0, sowie 29 bis 46 IPMZ und einem Mittelwert von 37,0 ebenfalls signifikant erniedrigt.

Serie I, der lediglich Anti-Kaninchen-Serum der Maus appliziert worden war, zeigte indes eine ungestörte primäre Immunantwort: hier wurden 330 bis 383 DPMZ bei einem Mittelwert von 360,2 und 381 bis 436 IPMZ bei einem Mittelwert von 408,2 nachgewiesen.

Einzelwerte und statistische Auswertung sind in Tabelle 2 u. 5 zusammengefaßt.

3. Nachweis der blockierenden Wirkung von Antiseren auf Anti-HE-Seren im heterolog-autologen-System

Die gegen Kaninchenserum vorsensibilisierte, als Kontrolle dienende Serie N hatte eine durch 210 bis 264 DPMZ bei einem Mittelwert von 237,3, sowie 229 bis 285 IPMZ bei einem Mittelwert von 256,6 jeweils in 10^6 Milzzellen definierte Immunantwort. Demgegenüber war die Primärantwort der ebenso vorsensibilisierten Serie L nach i.p. Applikation von Anti-HE-Serum vom Kaninchen signifikant erniedrigt mit 13 bis 18 DPMZ und einem Mittelwert von 15,3 sowie 14 bis 21 IPMZ

bei einem Mittelwert von 17,5 je 10^6 Milzzellen. Im Vergleich zur Kontrollserie war auch bei der Serie M, die analog vorsensibilisiert war und Anti-HE-Serum vom Kaninchen i.m. erhalten hatte, die Primärantwort erniedrigt; hier wurden 29 bis 46 DPMZ bei einem Mittelwert von 27,8 und 29 bis 47 IPMZ bei einem Mittelwert von 38,1 je 10^6 Milzzellen gefunden.

Einzelergebnisse und statistische Auswertung finden sich in Tabelle 3 u. 6.

E. Diskussion

Auch in den vorliegenden Untersuchungen konnte demonstriert werden, daß durch passive Zufuhr von AK die eigene AK-Bildung bei Erstsensibilisierung unterdrückt werden kann. Dies kam in einer signifikant erniedrigten Anzahl von AK-bildenden Zellen zum Ausdruck: gegenüber den unbehandelten Kontrollgruppen zeigten die Tiere nach passiver Zufuhr von AK eine Verringerung PMZ auf Werte zwischen 8,7 % und 5,4 %. Diese Inhibition war ohne erkennbare Differenz durch heterologe und isologe AK bedingt. Ein Unterschied war auch mit Bezug auf die Produktion von 19 S- oder 7 S- Immunglobulinen nicht erkennbar. Die Spezifität dieses Phänomens wurde insofern durch die Applikation von Seren der selben oder einer anderen Spezies gesichert, als es hierbei nicht zu einer signifikanten Änderung der AK-bildenden Milzzellen kam.

Das Ausmaß der Immunantwort nach Applikation von Immunkomplexen, bestehend aus den AK und den entsprechenden, gegen diese Immunproteine gerichteten AK, war dagegen nicht signifikant verändert gegenüber einer Primärreaktion, die allein unter dem Einfluß von AK stand. Dies hat sich in mehreren Untersuchungsserien zeigen lassen, wobei diese Beobachtung in gleicher Weise bei in vitro präformierten Immunkomplexen gemacht werden konnte wie

getrennter, jedoch gleichzeitiger Applikation dieser beiden Reaktionspartner. Hierbei ist bemerkenswert, daß offenbar dieses Verhalten selbst dann erhalten bleibt, wenn die getrennte Applikation nicht am gleichen Ort erfolgt. Die im einfachen System nachgewiesene Tatsache einer gleichsinnigen Hemmung der zellulären AK-Bildung bei der Primärantwort konnte mit Bezug auf die 19 S- und 7 S- Immunglobulinsynthese auch hier bestätigt werden.

Auffallend und daher wichtigster Diskussionspunkt ist die erhaltene repressorische Aktivität bei Applikation von Immunkomplexen und auch getrennter Verabreichung der beiden Reaktionspartner. Dies läßt sich in allen vorliegenden Systemen demonstrieren. So zeigte sich ein signifikanter Abfall in der Anzahl an PMZ in den Gruppen, die bereits in vitro präformierte Immunkomplexe erhalten hatten, wobei dies in gleicher Weise für die 19 S- wie auch für die 7 S- Immunglobulinproduzenten gilt. Daraus kann gefolgert werden, daß die Primärreaktion von Anfang an unterdrückt worden ist, daß aber diejenigen Zellen, welche schließlich zu einer Immunreaktion angeregt worden sind, eine normale Entwicklung mit Bezug auf die AK-Synthese genommen haben.

Ein interessanter Aspekt im Hinblick auf die Effizienz applizierter präformierter Immunkomplexe ergibt sich aus

der Tatsache, daß die Unterdrückung der Primärantwort offensichtlich im heterolog-heterologen-System weniger stark zum Ausdruck kommt als im heterolog-isologen-System, wobei hier die Verhältnisse von 3,7 % zu 9,3 % gegenüberstehen. Dies kann im wesentlichen in zweierlei Hinsicht gedeutet werden: einmal kann die höhere Wirksamkeit von Immunkomplexen, bestehend aus Fremdserum und Serum der eigenen Spezies größer sein als die von Komplexen unter Beteiligung zweier verschiedener Fremdseren. Zum anderen ist eine gleiche Effizienz nicht ausgeschlossen, wobei unter Beteiligung der Immunkomplexe aus 2 Fremdseren ein weiterer interferierender Effekt hinzukommt. Im erstgenannten Falle besteht die Möglichkeit, daß durch die Komplexbildung die Determinanten mit HE-Spezifität besser abgedeckt waren. Nachdem die Komplexbildung in beiden Fällen im Äquivalenzbereich erfolgt ist, kann dies durch eine unterschiedliche sterische Konfiguration bzw. Besetzung unterschiedlicher Bezirke der von Kaninchen stammenden Anti-HE-Immunglobuline erklärt werden. Wahrscheinlicher ist jedoch, daß der Immunkomplex, bestehend aus 2 Fremdseren, schneller eliminiert worden ist als der Komplex, welcher nur ein Fremdserum enthält. Dadurch ist die Hemmwirkung im heterolog-heterologen-System früher aufgehoben worden, woraus sich eine vergleichsweise höhere Anzahl PMZ gegenüber der entsprechenden Gruppe im heterolog-isologen-System ergibt. Sofern ein weiterer, interfe-

rierender Faktor angenommen wird, ist auf die stimulierende Wirkung von Immunkomplexen auf das Immunsystem hinzuweisen. Es handelt sich hierbei um einen unspezifischen Effekt, dessen Natur noch unklar ist. Er ist in gleicher Weise für die T- wie für die B-Zell-Population gegeben (20, 4). Demzufolge könnte die Hemmwirkung der zugeführten Komplexe im heterolog-heterologen-System durch einen solchen Stimulationseffekt teilweise aufgehoben worden sein.

Bedeutsam ist im Rahmen der vorliegenden Untersuchungen auch die Tatsache, daß die getrennte Applikation der Reaktionspartner zu prinzipiell gleichwertigen Effekten führt. Die Deutung ist hier im Gegensatz zur Wirkung präformierter Komplexe zwar einfacher, doch weniger schlüssig. Es ist naheliegend, daß die separate Zufuhr der Reaktionspartner eine Hemmwirkung erzielt, die derjenigen nach Applikation der entsprechenden Immunkomplexe zumindest gleichkommt. In der Tat ist die Primärantwort hier stärker unterdrückt worden (Serie C/D; Serie G/H). Diese Unterschiede sind deutlich erkennbar. Da sie eher den Werten derjenigen Gruppe gleichen, die ausschließlich Anti-HE-Serum erhalten hat, kann auf eine nur unzureichende in-vivo-Komplexbildung geschlossen werden. Es bleibt jedoch offen, inwieweit eine solche Bindung der Anti-HE-Antikörper dennoch erfolgt ist, da ja selbst die optimale Bindung eine Hemmwirkung nicht zu unterbin-

den vermag. Dies kann allerdings mit Bestimmtheit nur für das heterolog-heterologe- und das heterolog-isologe- System behauptet werden.

Schließlich ist auf die unterschiedlichen Ergebnisse hinzuweisen, die bei i.p. oder i.m. Applikation gewonnen worden sind. Bereits die Injektion von Anti-HE-Serum des Kaninchens allein vermag die Primärantwort gegen HE stärker zu unterdrücken, wenn dies i.p. erfolgt ist. Geht man davon aus, daß die Stärke der Immunantwort entscheidend von der Antigenmenge bestimmt wird, so erklärt sich dieser Effekt daraus, daß bei Inokulation der HE und des entsprechenden Antikörpers jeweils i.p., d. h. isotop weniger HE zur Verfügung stehen, während i.m. verabreichte Anti-HE-Antikörper erst über die Zirkulation das heterotope Antigen finden können. Im Falle der i.p. oder i.m. Applikation von Anti-HE-Serum in Tiere, welche gegen dieses Fremdprotein sensibilisiert worden sind, liegen andere Verhältnisse vor. Hier ist der i.m. gegebene Antikörper durch die entsprechenden, bereits zirkulierenden Immunproteine zumindest teilweise gebunden worden, ehe er die heterotop inokulierten HE angetroffen hat, wobei eine Resthemmung der Immunantwort zu verzeichnen ist. Der i.p. gegebene Antikörper wurde hingegen nicht oder weniger gebunden, so daß hieraus eine vergleichsweise stärkere Hemmung resultiert.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit lassen somit ins-

gesamt den Schluß zu, daß die Hemmwirkung passiv zugeführter Immunseren durch Komplexbildung mit entsprechenden Antikörpern zwar beeinträchtigt, aber keineswegs aufgehoben wird.

F. Zusammenfassung

Ausgehend von der bekannten Tatsache, daß die Immunantwort über einen Rückkoppelungsmechanismus durch passive Zufuhr von Antikörpern unterdrückt werden kann, sollte in den vorliegenden Untersuchungen geprüft werden, ob diese Hemmwirkung durch ein entsprechendes Antiserum aufgehoben wird. Hierzu wurden als entsprechendes Antigen Hammelerythrozyten verwendet, die in C 57 black-Mäusen eine Primärantwort induzierten. Die Rückkoppelung wurde durch Applikation eines heterologen, vom Kaninchen stammenden Anti-HE-Serum geschlossen. Eine Unterbrechung dieses Systems wurde mit heterologen, von der Ziege stammenden, isologen, von C 57 black-Mäusen stammenden und autologen, durch Vorsensibilisierung gegen Kaninchenserum gewonnenen Antikörpern versucht, wobei jeweils die Reaktionspartner isotop und heterotop in getrennten Serien appliziert wurden.

Die Ergebnisse bestätigen die Dominanz der Spezifität der applizierten Antikörper im Rückkoppelungssystem. Antiseren gegen diese Immunproteine vermögen trotz in vitro-Komplexbildung keine generelle Aufhebung der repressorischen Effizienz zu erreichen. Unterschiede ergeben sich jedoch im Hinblick auf die Herkunft der Antiseren, da in der Reihenfolge heterolog, isolog, autolog die Hemmungsfähigkeit abnimmt. Darüberhinaus

wurde durch isotope Applikation beider Störgrößen die Immunreaktion weniger verändert als durch heterotope Inokulation.

Aus den Untersuchungen ergibt sich die bemerkenswerte Tatsache, daß durch Komplexbildung die Fähigkeit von Antikörpern zur Unterdrückung der Immunantwort nicht aufgehoben wird.

G. Literaturverzeichnis

1. ADA, G. L. and LANG, P. G.: Antigen in tissues. II. State of antigen in lymph node of rats given isotopically-labelled flagellin, haemocyanon or serum albumin. Immunology (London) 10, 431 - 443 (1966).
2. BAENKLER, H. W.; SCHEIFFARTH, F. and MAHLBERG, E.: Suppression of 19S- and 7S- antibody-formation with homologous and heterologous immunsera. Z. Immun. Forsch. 141, 373 - 377 (1971).
3. BAENKLER, H. W.; SCHEIFFARTH, F. and MAHLBERG, H. J.: Inhibition of 19S- and 7S- antibody-formation by adoptively transferred heterologous and homologous immunized cells. Int. Arch. Allergy 42, 373 - 381 (1972).
4. BAENKLER, H. W.: SCHEIFFARTH, F. and v.LOEFFELHOLZ, B.: The influence of antigen-antibody-complexes on the cellular antibody-formation. Z. Immun. Forsch. 143, 264 - 270 (1972).
5. BEER, E. and OPPENHEIMER, B. S.: Transplantation of the adrenal cortex for addison's disease. Ann. Surg. 100, 689 (1934).
6. BROOKS, J. R.: Endocrine tissue transplantation. Springfield, III; Charles C. Thomas Co. (1962).

7. BUXTON, J. B. and GLENNY, A. T.: The active immunization of horse against tetanus. *Lancet* 11: 1109 - 1111 (1921).
8. CLARKE, C. A.: Prevention of Rh-haemolytic disease. *Brit. med. J.* 4: 7 - 12 (1972).
9. COHEN, E. P.: Conversion of non-immune cells into antibodyforming cells by RNA. *Nature (London)* 213 / 5075, 462 - 465 (1967).
10. COOPER, E. H.: Production of lymphocytes and plasma cells in the rat following immunization with human serum albumin. *Immunology (London)* 4: 219 - 239 (1961).
11. DIXON, F. J.; JACOT-GUILLARMOD, H. and Mc CONAHEY, P. J.: The effect of passively administered antibody on antibody synthesis. *J. exp. Med.* 125, 1119 - 1136 (1967).
12. DRESSER, D. W. and WORTIS, H. H.: Use of an antiglobulin serum to detect cells producing antibody with low haemolytic efficiency. *Nature* 208, 859 (1965).
13. EISEN, H. N. and SISKIND, G. W.: Variations in affinities of antibodies during the immune response. *Biochemistry* 3, 996 - 1020 (1964).

14. FINKELSTEIN, M. S. and UHR, J. W.: Specific inhibition of antibody-formation by passively administered 19S- and 7S- antibody. *Science* 146: 67 - 71 (1964).
15. HENRY, C. and JERNE, N. K.: The depressive effect of 7 S antibody and the enhancing effect of 19S antibody in the regulation of the primary immune response. *Nobel Symp.* 3, pp. 421 - 429 (Almquist and Wiksell, Stockholm 1967).
16. INGRAHAM, I. S. and BUSSARD, A.: Application of a localized hemolysin reaktion for specific detection of individual antibody forming cells. *Journal of Experimental Medicine* 119, 667 (1964).
17. JERNE, N. K. and NORDIN, A. A.: Plaque formation in agar by single antibody-producing cells. *Science* 140, 405 (1963).
18. MILLER, J. J.: An autoradiographic study of plasma cell and lymphocyte survival in rat popliteal lymph nodes. *J. Immunol* 86, 331 - 338 (1964).
19. MÖLLER, G.: Antibody-induced depression of the immune response. A study of the mechanism in various immunological systems. *Transplant. Bull.* 2, 405 - 412 (1964).
20. MÖLLER, G.: Induction of DNA-synthesis in normal human lymphocyte cultures by antigen-antibody complexes. *Clin.exp. Immunol.* 4, 65 - 82 (1969).

21. MÖLLER, G. and WIGZELL, H.: Antibody-synthesis at the cellular level. Antibody-induced suppression of 19S and 7S antibody response. J. exp. Med. 121, 969 - 989 (1965).
22. MORRISON, S. L. and TERRES, G.: Enhanced immunologic sensitization of mice by the simultaneous injection of antigen and specific anti-serum. II. Effect of varying the antigen-antibody ratio and the amount of immune complex injected. J. Immunol. 96, 901 - 905 (1966).
23. ROWLEY, D. A. and FITCH, F. W.: Homeostasis of antibody formation in the adult rat. J. exp. Med. 120, 987 - 1005 (1964).
24. ROWLEY, D. A. and FITCH, F. W.: The mechanism of the tolerance produced in rats to sheep erythrocytes. II. The plaque-forming cell and antibody response to multiple injections of antigen begun at birth. J. exp. Med. 121, 683 - 695 (1965).
25. SAHAR, K. and SCHWARTZ, R. S.: Inhibition of 19S antibody synthesis by 7S antibody. Science 146, 67 - 69 (1969).
26. SISKIND, G. W.: Selective recruitment of immunocompetent cells during the immune response: cellular interactions in the immune response. 2nd. Int. Convoc. Immunol. pp. 123 - 131 (Karger, Basel 1971).

27. SMITH, T.: Active immunity produced by so called balanced or neutral mixtures of diphtheria toxin and antitoxin. J. exp. Med. 11, 241 - 253 (1909).
28. STERNER, L. A. and EISEN, H. N.: Symposium on in vitro of the immune response. I. Variations in the immune response to a simple determinant. Bact. Rev. 30, 383 - 405 (1966).
29. TAO, T. W. and UHR, J. W.: Capacity of pepsin-digested anti-body to inhibit antibody formation. Nature 212, 208-209 (1966).
30. UHR, J. W. and BAUMANN, J. B.: Antibody formation. II. The specific anamnestic response. J. exp. Med. 113, 959 - 972 (1961).
31. URSO, P. and MAKINODAN, T.: The roles of cellular division and maturation in the formation of precipitating antibodies. J. Immunol. 90, 897 - 907 (1963).
32. WIGZELL, H.: Antibody synthesis at the cellular level. Antibody-induced suppression of 7S antibody synthesis. J. exp. Med. 124, 953 - 969 (1966).
33. WIGZELL, H.: Studies on some factors regulating antibody synthesis (Thesis, Stockholm 1967).
34. WIGZELL, H.: The rise and fall of 19S immunological memory against sheep red cells in the mouse. Ann. Med. exp. Fenn. 44, 209 - 215 (1966).

Ich möchte diese Arbeit nicht beschließen, ohne Herrn Professor Dr. med. Friedrich Scheiffarth für die Überlassung des Themas und die Übernahme des Referates zu danken .

Herrn Privatdozent Dr. med. H.-W. Baenkler möchte ich meinen herzlichen Dank aussprechen für die liebenswürdige Beratung in wissenschaftlichen Fragen, die freundliche Einführung in die experimentellen Grundlagen und die angenehme, menschliche Betreuung.

Lebenslauf

Ich wurde am 6. April 1944 als zweiter Sohn des Stadt-
oberinspektors i. R. Friedrich Juppe und seiner Ehefrau
Alice, geb. Tischer, in Gablonz an der Neisse geboren.
Nach der Aussiedlung im Jahre 1946 besuchte ich von
1950 bis 1955 die Volksschule in Augsburg-Hochzoll und
trat dann in das Humanistische Gymnasium bei St. Anna
in Augsburg über, an dem ich 1964 mein Abitur bestand.
Nachdem ich bei der Bundeswehr in Kempten zwölf Monate
verkürzten Wehrdienst abgeleistet hatte, belegte ich an
der Ludwig-Maximilian-Universität in München ein Semester
Naturwissenschaften. Im Sommer-Semester 1966 begann ich
in Erlangen mein Studium der Humanmedizin und legte am
30. Oktober 1968 die ärztliche Vorprüfung ab. Am 13. No-
vember 1970 heiratete ich meine Ehefrau Marlies, geb.
Kistler. Am 16. Februar 1972 legte ich das Staatsexamen
ab und war bisher als Medizinalassistent an der Neuro-
chirurgischen und der Medizinischen Universitätsklinik
tätig.

Offsetdruck-Fotodruck

J. Hogl, 8520 Erlangen, Hauptstr. 109 (Nähe Martin-Luther-Platz) Tel. 22990